Aus der Universitäts-Kinderklinik zu Würzburg
(Vorstand: Professor Dr. H. RIETSCHEL)

Perorale, passive Immunisierung von Meerschweinchen gegen Diphtherie

*

Inaugural-Dissertation

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät
der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Josef Heddäus
aus Frankfurt am Main

1937
Buchdruckerei Fritz & Rappert, Ochsenfurt am Main

Referent: Professor Dr. H. RIETSCHEL

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Würzburg

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543519_0112

Einleitung.

Obgleich heute die parenterale Art der Einverleibung von Heilserum die praktisch allein maßgebliche Rolle spielt, tauchen doch immer wieder in der Literatur Versuche auf, die auch der peroralen Serumeinverleibung einen mehr oder weniger großen Immunisierungswert zuschreiben wollen.

Schmid und Pflanz waren die ersten, die nachweisen konnten, daß das Antitoxin vom Blut der Wöchnerin auf die Milch übergeht, wenn auch nur in sehr geringen Mengen. Nach Salomonsen und Madsen ist das Verhältnis von Serumantitoxin zu Milchantitoxin 200 : 1. Hier zeigt also die Natur selbst den Weg der passiven, peroralen Serumeinverleibung vor.

Es gelang gegen die verschiedensten Erkrankungen bei verschiedenen Tieren eine gewisse Immunität auf diese Weise zu erzielen. Ehrlich erreichte Immunität der Mäuse gegen die Pflanzenalkaloide Ricin und Abrin, gegen Tetanus und gegen Rotlauf bei Säugung durch immune Mütter. Ähnliche Versuche stellten Wernicke bei Meerschweinchen und Th. Smith ebenfalls bei Meerschweinchen an. Das Resultat war gleichfalls ein Erfolg. Fand die Immunisierung der Muttertiere kurz vor oder während der Laktation statt, so ist nach Zoeller kein Übertritt des Antitoxins in die Milch der Mutter nachweisbar. War das Muttertier dagegen vor der Gravidität immunisiert worden, so wurden die besten Übertragungsergebnisse gefunden. Auch Römer und Much, Römer, Salge, Bertarelli, Ikeda konnten bestätigen, daß das Antitoxin der Milch bei peroraler Verfütterung resorbiert wird. Bertarelli erreichte durch Verfüttern der Milch von Immuntieren auch bei Hund und Kaninchen Immunität. Die Resorption war in den ersten Lebenstagen der Tiere am größten. Römer immunisierte eine Stute während der Gravidität gegen Diphtherie. Bei der Geburt des Fohlens hatte sie 50 Antitoxineinheiten (= A.E.) im Serum und 5 Antitoxineinheiten in der Milch. Das Fohlen hatte zuerst 0 A.E. Durch die Säugung wuchs der Serumantitoxingehalt des Fohlens an und erreichte nach vier Tagen $^1/_{10}$ A.E. und nach zwölf Tagen 5 A.E. Ähnliche Ergebnisse beobachtete er an Kaninchen mit Tetanus. Für erwachsene Tiere (Pferd und Schaf) konnte Römer keine Immunität feststellen. Salge gab einem Säugling per os 3000 Immunitätseinheiten Diphtherieantitoxin zusammen mit Frauenmilch. Er stellte fest, daß davon praktisch nichts aufgenommen wird. Beim Säugen konnte er jedoch eine Resorption feststellen.

Ein Übertritt von Antitoxin fand statt, wenn es als integrierender Bestandteil der Frauenmilch dem Säugling zugeführt wurde. Heilserum passierte die Darmwand nicht. Als Ursache sah SALGE die Tatsache an, daß es sich einmal um heterologes, das andere Mal um homologes Serum handelte. RÖMER und MUCH konnten feststellen, daß nach siebentägiger Eutternahrung der Kälber $^1/_{40}$ bis $^1/_{10}$ des verfütterten Antitoxins in das Blut übergegangen waren.

Nicht ganz so günstig liegen die Erfahrungen, die beim Verfüttern von Heilserum, also von Blutserum-Antitoxin gemacht wurden. Hier hat ESCHERISCH 1897 interessante Versuche angestellt und nachgewiesen, daß bei Säuglingen nach Fütterung von Diphtherieheilserum nur in den ersten Monaten eine ganz geringe Steigerung des Blut-Antitoxingehaltes zu erreichen war. Bei Verabreichung des Diphtherieheilserums per Klysma waren die Erfolge ähnlich. ESCHERISCH nahm an, daß an zwei Stellen das Antitoxin zurückgehalten beziehungsweise unwirksam gemacht werden könne: entweder in der Darmschleimhaut oder in der Leber. Um die Darmschleimhaut zu umgehen, spritzte er einem Hunde 4000 A.E. direkt zwischen die Mesenterialblätter, ohne daß eine Erhöhung des Antitoxins im Blut aufgetreten wäre. ESCHERISCH schloß daraus, daß in der Leber das Antitoxin abgefangen wird. Erwähnt sei noch, daß auch ESCHERISCH eine Zunahme des Antitoxins im Blut nur in den ersten Lebensmonaten feststellen konnte. Später wurde peroral gegebenes Antitoxin nicht mehr aufgenommen. GANGHOFER und LANGER gaben bei Hund, Kaninchen und Katzen in den ersten Lebenstagen Eiweiß und Blutserum, was sie mit Hilfe der Präzipitine unverändert im Blut nachweisen konnten, allerdings in sehr geringen Mengen. Ebenso fanden sie im Blut eines drei Wochen alten Kindes das vorher per os gegebene Albumin qualitativ unverändert wieder vor. R. T. HEWLETT verfütterte Meerschweinchen und Kaninchen Diphtherieantitoxin in Mengen von 1000 und 2000 A.E. Danach setzte er eine Infektion, die die Tiere tötete. Den gleichen Mißerfolg brachte der entsprechende Versuch mit Tetanusantitoxin. Nach CARNOT und BLAMOUTIER muß die Darmschleimhaut irgendwie verändert sein, um für Serumantitoxin durchlässig zu werden. Normale Darmschleimhaut ist undurchlässig. REITER und SOLDIN erhöhten die Permeabilität der Darmschleimhaut durch Galle und benzoesaures Natrium. REITER stellte fest, daß nach Vorbereitung der Darmschleimhaut mit benzoesaurem Natrium diese durchlässig wurde, und er so eine perorale Immunisierung gegen Typhus und gegen Ruhr erreichen konnte. Nach UFFENHEIMER geht bei neugeborenen Meerschweinchen das per os gegebene Diphtherie- und Tetanus-Antitoxin über. Er machte dafür den Karbolsäuregehalt des Serums verantwortlich. Erwähnt sei noch ein Artikel des Arztes DE MINCEIS in der Gaz. degli Osped. vom 19. Juli 1896. Danach hat dieser Arzt bei seinen Patienten per os Serum verabreicht und angeblich bei Diphtheriekranken die gleichen Ergebnisse erzielt wie bei der subkutanen Anwendung.

So sind also heute die Anschauungen über die Möglichkeiten einer peroralen passiven Immunisierung durchaus noch keine einheitlichen. Der

Wechsel an positiven und negativen Versuchsergebnissen zeigt, daß wohl noch bestimmte Faktoren wirken müssen, um die Resorption erst zu ermöglichen. Maßgebend in diesem Sinne scheint das Alter der Tiere zu sein, insofern, daß jugendliche Tiere bessere Resorptionsmöglichkeiten durch die Darmschleimhaut haben. Es scheint ferner von Bedeutung zu sein, ob die Darmschleimhaut verändert ist, eventuell im Sinne einer Entzündung. Und nicht zuletzt wird wohl ein Unterschied bestehen, ob man heterologes oder homologes Serum verabreicht. Sehr unklar ist ferner noch die Bedeutung der Leber. Es besteht durchaus die Möglichkeit, daß man durch eine Blockade der Leber bessere Resultate erzielen kann als bisher.

Eigene Versuche.

Ich komme nun zu meinen eigenen Versuchen, und zwar an conjunctivaldiphtheriekranken Meerschweinchen. Über die Methodik ist zu bemerken, daß bereits LÖFFLER 1884 Meerschweinchen conjunctival infizierte, indem er die Conjunctivalschleimhaut vorher etwas skarifizierte. Auch UHTHOFF bediente sich 1894 dieser Methode. Ich arbeitete bei meinen Versuchen nach der Arbeitsweise BESSAU's. BESSAU ersetzte die Skarifikation durch das Anbrennen der kokainisierten Schleimhaut mittels einer glühenden Öse[1]).

Versuch I.

In der ersten Versuchsreihe sollte nachgewiesen werden, ob in der Resorption von homologem und heterologem Diphtherieheilserum, das per os gegeben wird, ein Unterschied besteht. Zu diesem Zweck wurden am 14. 1. 1935 35 Meerschweinchen von 300 bis 600 gr Gewicht mit Diphtherie nach BESSAU rechts infiziert. Bereits am gleichen Tage zeigten die Tiere alle eine beginnende Conjunctivitis und wurden nun therapeutisch wie folgt behandelt:

A. 5 Tiere bekamen als Kontrolle keinerlei Serum. Am 4. 2. und auch am 23. 2. waren 4 Tiere tot (Sektion: Typischer Befund) und 1 Tier war sehr schwer krank.

B. 5 Tiere bekamen je 1 ccm 500faches Pferdeserum intramuskulär. Die Tiere erkrankten nur sehr leicht und waren am 4. 2. bereits alle wieder o. B. geheilt.

---

[1]) Es wurde die Bindehaut beider Augen zunächst mit einer 5%igen Kokainlösung unempfindlich gemacht und dann mit einer rotglühenden Öse leicht angebrannt. Eine Öse einer 20stündigen Kultur eines Diphtheriestammes wurde in 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, und von dieser Aufschwemmung wurde je eine flache Öse in das rechte Auge der Tiere gebracht.

C. 5 Tiere bekamen je 1 ccm $^1/_5$faches Meerschweinchenserum intramuskulär. Die Tiere erkrankten alle schwer und am 4. 2. waren 3 tot und 2 schwer krank. Am 23. 2. waren 3 tot und 2 leicht krank.

D. 5 Tiere bekamen je 1 ccm 500faches Pferdeserum per os. Die Tiere erkrankten alle schwer, jedoch waren am 4. 2. nur 1 Tier tot, 3 schwer krank, 1 gesund. Am 23. 2. war 1 Tier tot, 1 schwer krank, 2 leicht krank, 1 gesund.

E. 5 Tiere bekamen je 1 ccm $^1/_5$faches Meerschweinchenserum per os. Am 4. 2. waren bereits alle Tiere eingegangen.

F. 5 Tiere bekamen an 5 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 ccm 500faches Pferdeserum per os, zusammen also 2500 A. E. Am 4. 2. waren 3 Tiere tot, 1 schwer und 1 leicht krank. Am 23. 2. waren 3 Tiere tot und 2 leicht krank.

G. 5 Tiere bekamen an 2 aufeinanderfolgenden Tagen je 1 ccm $^1/_5$faches Meerschweinchenserum per os, zusammen also $^2/_5$ A. E. Am 4. 2. waren 3 Tiere tot, 1 schwer und 1 leicht krank. Am 23. 2. waren 4 Tiere tot und 1 gesund. (Siehe Tabelle I.)

Tabelle I.

(Stand des Versuchs 1½ Monate nach der Infektion.)

	A *Kontrolle*	*B* *500 A.E. i. m. Pferde-Serum*	*C* *1/5 A.E. i. m. Meerschw.-Serum*	*D* *500 A.E. per os Pferde-Serum*
geheilt	0 (0%)	5 (100%)	0 (0%)	1 (20%)
krank leicht	0 (0%)	0 (0%)	2 (40%)	2 (40%)
krank schwer	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)
tot	4 (80%)	0 (0%)	3 (60%)	1 (20%)

	E *1/5 A.E. per os Meerschweinchen-Serum*	*F* *5mal je 500 A.E. per os Pferde-Serum*	*G* *2mal je 1/5 A.E. per os Meerschweinchen-Serum*
geheilt	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)
krank leicht	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)
krank schwer	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)
tot	5 (100%)	3 (60%)	4 (80%)

Zu diesem Versuch ist noch zu bemerken, daß die Heilserumverfütterungen in den nüchternen Magen der Tiere erfolgte. Das zum Teil günstige Ergebnis mit dem 500fachen Serum scheint dafür zu sprechen, daß die Magen-Darmschleimhaut der Meerschweinchen in der Lage ist,

das Diphtherieantitoxin zu resorbieren. Bei den Versuchen mit Meerschweinchenserum ist die Antitoxinkonzentration zu gering gewesen, sodaß sowohl bei intramuskulärer (C), als auch bei peroraler (E und G) Verabreichung kein Erfolg festgestellt werden konnte.

Versuch II.

In der zweiten Versuchsreihe wurde nur 500faches Pferdeserum, ebenfalls nüchtern, diesmal aber an ausgesprochen schwere Tiere von 400 bis 700 gr Gewicht, verfüttert.

Am 25. 2. 1935 wurden 35 Meerschweinchen mit derselben Methode wie oben, rechts infiziert. Nach 8 Stunden war bei allen Tieren bereits eine beginnende Conjunctivitis nachzuweisen, und es bekamen jetzt therapeutisch:

A. 20 Tiere je 1 ccm 500faches Pferdeserum per os.

B. 10 Tiere als Kontrolle keinerlei Serum.

C. 5 Tiere je 1 ccm 500faches Pferdeserum intramuskulär.

Beinahe alle Tiere erkrankten an beiderseitiger Conjunctivitis, die bei den intramuskulär behandelten Tieren leichterer Natur blieb, bei den Kontrollen und bei den peroral behandelten Tieren aber auch verschiedentlich zu mehr oder weniger starken Infiltraten des nichtinfizierten Auges führte. Am schwersten erkrankten die Kontrolltiere.

Am 10. 4. 1935, also $1\frac{1}{2}$ Monate nach der Infektion, zeigte sich der aus Tabelle II ersichtliche Zustand der Tiere.

Tabelle II.

	Gruppe A (per os)	*Gruppe B (Kontrolle)*	*Gruppe C (intramuskulär)*
geheilt	6 (30%)	0 (0%)	5 (100%)
krank leicht	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
krank schwer	2 (10%)	2 (20%)	0 (0%)
tot	12 (60%)	8 (80%)	0 (0%)

Aus dieser Serie geht deutlich hervor, daß auch peroral verabreichtes Diphtherieheilserum eine therapeutische Wirkung entwickeln kann. Nicht allein die Prozentzahl[2]) der eingegangenen Tiere ist bei den per os behandelten Tieren kleiner als bei den Kontrollen — das besagt bei der kleinen Anzahl der Tiere nur wenig — sondern es wurden von 20 peroral behandelten Tieren 6 wieder geheilt, von den Kontrolltieren aber keines. Noch etwas spricht ebenfalls in dieser Richtung, nämlich die Zahl der einseitig erkrankten und die der beiderseits erkrankten Tiere. Ein Vergleich dieser

[2]) Selbstverständlich können bei dem kleinen Material aus Prozentzahlen keine bindenden Schlüsse gezogen werden.

Zahlen ergab, daß 1 Monat nach der Infektion noch $^4/_5$ der Kontrolltiere beiderseits erkrankt waren, trotz einseitiger Infektion. Wurden die Tiere aber peroral oder intramuskulär behandelt, so war die Zahl der nach 1 Monat noch beiderseitig erkrankten Tiere geringer. Wenn man von der Voraussetzung ausgeht, daß eine doppelseitige Erkrankung eine schwerere Erkrankung darstellt als eine einseitige, so ist auch hier der peroralen Verabreichung des Heilserums eine bestimmte therapeutische Wirkung nicht abzusprechen.

Zusammenfassung.

Bei peroraler Verabreichung des Diphtherieserums bei conjunctivaldiphtheriekranken, erwachsenen Meerschweinchen konnte eine geringe heilende Wirkung erzielt werden. Die Erkrankung verlief weniger schwer, und es war die Letalität den nicht behandelten Kontrolltieren gegenüber deutlich herabgesetzt. Die therapeutische Wirkung konnte aber in keinem Fall mit der ausgezeichneten Wirkung des intramuskulär gespritzten Serums verglichen werden, dessen hervorragende therapeutische Wirkung bei weitem nicht erreicht werden konnte.

Ich möchte die Arbeit nicht abschließen, ohne an dieser Stelle Herrn Professor Dr. RIETSCHEL für die freundliche Anregung und Überlassung der Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

Gleichzeitig gilt mein Dank Herrn Dr. v. BORMANN für das meiner Arbeit entgegengebrachte Interesse sowie für manche wertvolle Unterstützung.

Literatur-Angabe.

Bertarelli: 1905, Centralblatt für Bakteriologie. O. I. 39/285.

Carnot und Blamoutier: 1923, Bul. et mem. hôp. Paris 39/452.

Ehrlich: 1892, Zeitschrift für Hygiene, 12/188.

Escherisch: 1897, Wiener klinische Wochenschrift. 10/799.

Ganghofer und Langer: 1904, Münchner Medizinische Wochenschrift. Nr. 34.

R. T. Hewlett: 1902, Transact. path. Soc. London 53/220.

Ikeda: 1924, J. infect. disc. 3/29.

Löffler: 1884, Mitteilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. II/421.

Reiter und Soldin: 1926, Deutsche Medizinische Wochenschrift. 52/1337.

Reiter: 1926, Deutsche Medizinische Wochenschrift. Nr. 23.

Römer und Much: 1906, Jahrbuch für Kinderheilkunde. 63/684.

Römer: 1901, Berliner klinische Wochenschrift. 38/1150.

Römer: 1909, Zeitschrift für Immunitätsforschung. 1/171.

Salge: 1904, Jahrbuch für Kinderheilkunde. 60/1.

Salomonsen und Madsen: 1897, Nord. med. Ark. n. F. 8, Festband Axel Key.

Schmid und Pflanz: 1896, Wiener klinische Wochenschrift. 9/55.

Th. Smith: 1907, J. med. research. 16/359.

Uffenheimer: Archiv für Hygiene. Bd. 59 H. 1/2.

Wernicke: 1895, Festschrift zur 100jährigen Stiftungsfeier des medizinischen chirurgischen Friedrich-Wilhelm-Instituts, Berlin.

Zoeller: 1925, Presse med. 33/I/238.

Lebenslauf.

Am 27. April 1910 wurde ich als Sohn des Architekten *Thomas Heddäus* und dessen Ehefrau *Käthe*, geb. Klippel, zu Frankfurt a. M. geboren. Mit 7 Jahren kam ich zur Schule und besuchte die Brüder-Grimm-Mittelschule und die Helmholtz-Oberrealschule zu Frankfurt a. M., wo ich Ostern 1930 die Reifeprüfung (Abitur) bestand. Anschließend studierte ich Medizin an den Universitäten Frankfurt, Königsberg und Würzburg. Nach dem 5. Semester bestand ich das Physikum in Frankfurt und nach dem 11. Semester das medizinische Staatsexamen in Würzburg.

Ich versichere hiermit ehrenwörtlich, daß ich die vorliegende Arbeit selbständig verfaßt und keinerlei unerlaubte Hilfsmittel dazu benützt habe.